

A TRAPPISTA SAJT MINŐSÍTÉSÉRE, ÉRETTSÉGI ÁLLAPOTÁNAK JELLEMZÉSE ALKALMAS MÁSODLAGOS PROTEOLITIKUS JELLEMZŐK MEGÁLLAPÍTÁSA TÖBBVÁLTOZÓS MÓDSZEREKKEL

**BARÁNE Herczegh Ottilia¹, HORVÁTHNÉ Almássy Katalin¹ és
ÖRSI Ferenc.²**

¹SZTE Szegedi Élelmiszeripari Főiskolai Kar

²BMGE, Vegyészmérnöki Kar

6724. Szeged, Mars tér 7.

Tel./Fax: 62/546-024

E-mail: otti@szef.u-szeged.hu

ÖSSZEFOGLALÓ

A másodlagos proteolízisnek méretkizárásos kromatográfiával és fotometriás (trinitrobenzolszulfonsavas) módszerrel nyert adatainak alkalmazhatóságát tanulmányoztuk a magyar Trappista sajt érettségi állapotának jellemzésére. A proteolitikus jellemzőket a sajt érlelési és eltarthatósági ideje alatt határoztuk meg, hogy összefüggést találjunk az adatok változása a sajt kora és érzékszervi tulajdonságai között. A vizsgálatokba 5 gyártásból származó Trappista sajtmintát vontunk be, melyeket beltartalmi és érzékszervi módszerekkel minősítettünk. A proteolitikus adatokat egy- és többváltozós módszerekkel értékeltük. Találtunk olyan a sajt korával korrelációba hozható jellemzőket, melyek érési indexként felhasználva értékes adatokkal szolgálnak a magyar Trappista sajt érettségi állapot jellemzéséhez.

Bevezetés

A magyar Trappista sajt hazánkban az egyik legnépszerűbb tehéntejből készült félkemény sajt, történelmi tejtermék, Hungaricum [1,2]. Tulajdonságairól már korábban beszámoltunk [3]. A termékminőség leírása, meghatározása minőségi jellemzők segítségével történik. A sajt minősítésében az összetétel és az érzékszervi analízis mellett jelentősséggel bírnak olyan analitikai módszerekkel meghatározott minőség mutatók, érettségi állapotjelzők, melyek kiegészítő információt adnak a sajtmínősítésben. [4]. A legtöbb kemény és félkemény sajtnál a proteolízisre vonatkozó vizsgálatok az érettség mértékének legáltalánosabban használt jellemzője [5, 6]. A proteolízis becslésének módszereiről, az utóbbi időben számos összefoglaló munka jelent meg [7, 8, 9]. Rank Grappin és Olson [10] a proteolízist két szakaszra osztották, elsődleges és másodlagos proteolízisre. A másodlagos proteolízis érési indexként való

BARÁNE et al.: A Trappista sajt minősítésére, érettségi állapotának jellemzése alkalmas másodlagos proteolitikus jellemzők megállapítása többváltozós módszerekkel

alkalmazása magába foglalja a sajt nitogéntartalmú vegyületeinek (peptidek, fehérjék, aminosavak) elválasztását, mennyiségi meghatározását és jellemzését. A vízdoldható frakcióban a szabad aminocsoportok meghatározhatók trinitro-benzolszulfonsav (TNBS) reagenssel. A fotometriás módszer egyik továbbfejlesztett változata Polychroniadou eljárása [11]. Melyet sikeresen alkalmazott Feta és Telemea sajtra [12]. Az utóbbi időben a sajt érés kutatás területén többváltozós módszereket (főkomponens analízis, diszkriminancia analízis) alkalmaznak a minősítéshez felhasznált nagymennyiségű adat értékelésére [13, 14, 15]. Ruiz és munkatársai többváltozós módszereket használt a Manchego sajt korának becslésére a kémiai összetétel és a proteolitikus adatok felhasználásával [16]. Bár a proteolízis tanulmányozásának hatalmas irodalma van a vizsgált sajtok köre lényegesen kisebb, és az eredmények részben speciálisak a sajttípusra.

Munkánkban célul tűztük ki a magyar Trappista sajt másodlagos fehérjebomlással keletkező, proteolitikus jellemzőinek meghatározását, Polychroniadou [11] módszere és a vízdoldható frakció gélkromatográfiás analízise (HPSEC) alapján, a célból, hogy összefüggést keressünk a sajt kora, érettségi állapota és a proteolitikus jellemzők változása között. A sajtok minősítését a beltartalmi összetétel, a termék szabvány szerinti érzékszervi módszer, valamint az érettségi állapotra kidolgozott [17] pontozásos érzékszervi módszer alapján végeztük el.

1. Anyagok és módszerek

1.1 Vizsgálati minták

Vizsgálatainkhoz a nyers, korong alakú egész (kb. 1 kg-os) Trappista mintákat a Tolnatej Rt. Szekszárdi Sajtüzeme bocsátott rendelkezésünkre. A sajt minták a vizsgálóhelyen érleltük és tároltuk a gyári paraméterek szerint 7°C -on. Az érés és eltarthatósági idő alatt bekövetkező változások követése céljából alkalmanként egy mintát vizsgáltunk. A minták kora: érlelési szakaszban: 3; 7; 14; 21 nap, az eltarthatósági idő alatt pedig: 28; 42; 56, 70 nap volt. A teljes mintaszám: 5 gyártásból származó összesen 40 minta.

1.2 Vizsgálati módszerek

Sajtok minősítése

A minták beltartalmi jellemzői közül nedvesség- [18], zsír- [19], sótartalom [20] meghatározását a magyar szabvány előírásai szerint, a fehérje tartalmat [21]

BARÁNE et al.: A Trappista sajt minősítése, érettségi-állapotának jellemzése alkalmas másodlagos proteolitikus jellemzők megállapítása többváltozós módszerekkel

AOAC módszer szerint végeztük el. Az érzékszervi vizsgálatok leírásáról és körülményeiről már korábban beszámoltunk [3, 17].

1.3 Proteolitikus jellemzők meghatározásának módszerei

Szabad aminos csoportok meghatározása trinitro-benzolszulfonsavval

A sajtok szabad aminos csoportjainak mennyiségét Polychroniadou módszere szerint határoztuk meg. A reakciót különböző extraktum mennyiségekkel (eredeti (0.5 cm³), és módosított mennyiség (0.3 cm³) végeztük, hogy a teljes időintervallumban a Lambeer-Beer törvény lineáris tartományában mérjünk. A vízdoldható frakció szabad aminos csoport mennyiségét, vele egyenértékű glicin koncentrációban fejeztük ki. A módszer teljesítményjellemzőinek meghatározásához a kalibrációs vizsgálatot valamint a vak érték átlagát és szórását határoztuk meg [11].

1.4 Vízdoldható frakció analízise méretkizárásos kromatográfiával

Vízdoldható frakció kinyerése

A minta előkészítését méretkizárásos kromatográfiához Kaminogawa [22] módszere szerint végeztük. A kinyert vízdoldható frakciót liofilizáltuk.

Az elválasztás körülményei

A liofilizált mintákból 20 mg/cm³ oldatot készítettünk, oldószerként a nátrium-lauril-szulfát (SDS) tartalmú eluent alkalmazva. A méretkizárásos kromatográfiát VARIAN LC STAR rendszeren végeztük. Az alkalmazott egységek: nagyteljesítményű szivattyú (9012), automata mintaadagoló (9100), diódasoros detektor (9065). Az oszlop Spherogel TSK 2000 SW (Beckmann, Japán) (7,5x300 mm, 10µm). Az eluens 0,2 M NaH₂PO₄ pH6,8+ 2%SDS, a térfogatáram sebessége: 1,00 cm³/perc injektált minta térfogat: 20 mm³. Az eluátum fényelnyelését: 190-367 nm-es tartományban követtük nyomon. A rendszer vezérlését, és az adatok értékelése Varian Star 5.3 software-rel végeztük. A módszer teljesítményjellemzőinek meghatározásához (oszlop hatékonyság, szelektivitás, a frakciók átlagos móltömege) kalibrációs méréseket végeztünk Pungor szerint [23].

1.5 Az adatok értékelésének módszerei

A HPLC kromatogramokat Varian Star 5.3 software-rel végeztük el. A vizsgálati eredményeket egy- és többváltozós matematikai statisztikai módszerekkel (variancia-, regresszió-, főkomponens- és diszkriminancia analízis) elemeztük [24, 25].

2. Eredmények és értékelésük

2.1 A sajtok minősítése

Amint korábban már beszámoltunk [3, 17] a minták beltartalmi összetétele és az eltarthatósági időben termékszabvány szerint meghatározott érzékszervi pontszámai alapján megfeleltek a követelményeknek. Az üzemi és a saját minősítés alapján a termékek az érési idő elteltével "kiváló" minőségűek voltak (érezékszervi minősítés súlyozott összpontszám átlaga: üzemi: 17,85 (szórás: 0,39); saját: 18,06 (szórás: 0,79). A pontozásos érzékszervi módszerrel nyert adatok az eltarthatósági időben jól korreláltak a szabványos eljárással kapott értékekkel [17].

2.2 A proteolitikus jellemzők értékelése

2.2.1 Az alkalmazott módszerek teljesítményjellemzői

Szabad aminoszavak meghatározása trinitro-benzolszulfonsavval

A szabad aminoszavakkal egyenértékű glicin koncentrációt kalibrációs mérőszorozattal határoztuk meg. Az abszorbancia (Y) és glicin koncentráció (X) közötti összefüggés: $Y = 2,452x - 0,0147$ SE=0,0217 $r=0,999$ $n=16$. A kalibrációs mérés alapján a fotometriás módszer érzékenysége 2,452 abszorbancia / mM dm⁻³ glicin. A párhuzamos mérések alapján a vak értékek abszorbancia átlaga és szórását figyelembe véve a kalibrációs mérés alapján kiszámoltuk a detektálási határt és a módszer pontosságát [26]. Detektálási határ: 0.029923 mM/dm³ glicin, Pontosság: 0.0037 mM/dm³ glicin.

2.2.2 Vízoldható frakciók analízise gélpermeációs kromatográfiával

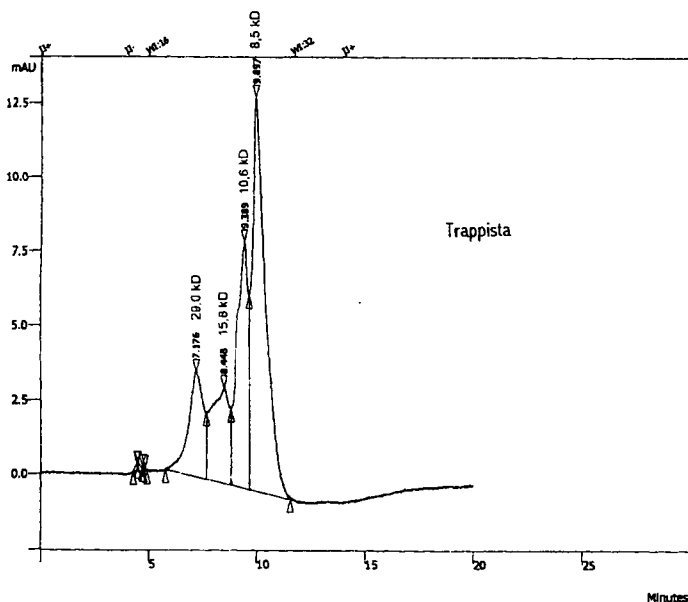
A kromatográfiás oszlop kizárási térfogata=5,50 cm³, áteresztési térfogata=13,75 cm³. Móltömeg becslés elúciós térfogat alapján:

**BARÁNE et al.: A Trappista sajt minősítésére, érettségi állapotának jellemzése
alkalmas másodlagos proteolitikus jellemzők megállapítása többváltozós
módszerekkel**

$\ln Mt = A + B \cdot Ve$ $A=13,463$, $B=-0,446$ $r=-0,980$, $SD = 0,213$, $n = 6$, $p = 0,00057$,
Molekulatömeg szelektivitás $=2,242$. Móltömeg becslés megoszlási állandó
értékéből: $\ln Mt = A + B \cdot K_{(SEC)}$, $A=11,012$, $B=-3,1165$, $r=-0,980$, $SD = 0,213$, $n = 6$, $p = 0,00057$.

2.2.3 A sajt kromatogramok értékelése

A Trappista sajt kromatogramokat az aromás aminosavakra jellemző hullámhosszon (278 nm) értékeltük. A Trappista sajt kromatogram, a többi félkemény sajtéhoz hasonlóan [27] karakterisztikus volt. Az érettségi idő növekedésével a csúcsok száma 3-tól 5-ig változott. A kromatogramok összehasonlítása és az eredmények matematika statisztikai értékelhetősége céljából felhasználtuk a HPLC értékelési lehetőségét, amely a csúcsokat csoportokba sorolja bizonyos esetekben összeolvadó vagy elváló csúcsokat egy egységként kezeli. Négy csoportot különböztettünk meg, amelyek átlagos móltömege a következő: 1. frakció = 29,0 kD, 2. frakció=15,8 kD; 3. frakció= 10,6 kD, 4. frakció=8,5 kD. A 15,8 kD-os 2. frakció a minták egy részénél hiányzott. (A Trappista minta egy jellegzetes kromatogramja az 1. ábrán látható.) A kromatogramokat a százalékos területarányok, és az egyes frakciók százalékos terület arányai (1:3, 1:4 frakció arányok) alapján hasonlítottuk össze.



1. ábra. Trappista sajt kromatogram

**BARÁNE et al.: A Trappista sajt minősítésére, érettségi állapotának jellemzése
alkalmas másodlagos proteolitikus jellemzők megállapítása többváltozós
módszerekkel**

2.2.4 A proteolitikus jellemzők értékelése főkomponens analízissel

A 40 minta proteolitikus jellemzőinek felhasználásával főkomponens analízist végeztünk a százalékos területarányok (1. frakció, 2. frakció, 3. frakció 4. frakció, 1:3, 1:4 frakció arány) és a fotometriás adatok bevonásával. Az egyes főkomponensek saját értékeit (λ), varianciáját és kommunalitását (h^2) az I. táblázat tartalmazza. A főkomponens súlyokból megállapítottuk, hogy az első főkomponenst a fotometriás adatok, az 1. és 4. frakció százalékos területaránya és 1:3, 1:4 frakció arány határozta meg közel azonos mértékben. A második főkomponenst pedig elsősorban a 3. és kisebb mértékben a 4. frakció százalékos terület aránya. Az első két főkomponens jelentőségét a saját értékek nagysága is alátámasztotta [28].

I. táblázat. A proteolitikus adatok főkomponens analízisének jellemzői

Trappista			
főkomp. száma	λ	variancia %	h^2
1	5,21	65,22	65,22
2	1,28	16,03	81,26

2.2.5 A gyártástól eltelt idő becslése proteolitikus jellemzőkkel

Becslés az első főkomponens segítségével

Az előző fejezet szerint meghatározott első főkomponens felhasználásával a sajt kora (nap) becsülhető volt, a becslő egyenlet lineáris regresszióval adható meg ($Y = 29.87 + 7.95PC_1$, $r=0.813$, $SE=13.04$ $n=158$). A becslés hibájára kapott viszonylag nagy érték (13,04 nap) ezért az eredeti változók felhasználásával próbáltam pontosabb becslést adni.

Becslés eredeti változókkal

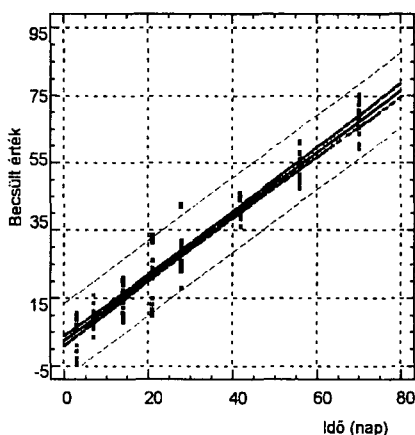
Lépésenkénti változó szelekcióval kiválasztottuk azokat a jellemzőket, melyekkel a gyártástól eltelt idő becsülhető. A százalékos területarányok és a fotometriás adatok felhasználásával a gyártástól eltelt idő az alábbi egyenlet szerint becsülhető: $Y = -1,077x_1 - 0,2247x_2 + 12,316x_3 + 11,201x_4 + 114,029x_5$ ahol: Y = a gyártástól eltelt idő, x_1 =az 1. frakció százalékos területaránya, x_2 =a 4. frakció százalékos területaránya, x_3 =az 1. és 3. frakció százalékos területarányának hányadosa, x_4 =az 1. és 4. frakció százalékos területarányának hányadosa,

BARÁNE et al.: A Trappista sajt minősítésére, érettségi állapotának jellemzése alkalmas másodlagos proteolitikus jellemzők megállapítása többváltozós módszerekkel

x_5 =fotometriás adatok (módosított eljárás). A becslt és a mért értékek közötti összefüggés a 2. ábrán látható. A Trappista mintáknál a becslés pontossága 5,85 nap, ami a teljes időintervallumra számítva kb. 8% -nak felel meg. Tehát a Trappista sajtnál a másodlagos proteolízis egyes jellemzőiből az érési idő becsülhető volt, ami hasonlóságot mutat Ruiz [16] eredményeivel.

Trappista sajt korának becslése eredeti
változókkal

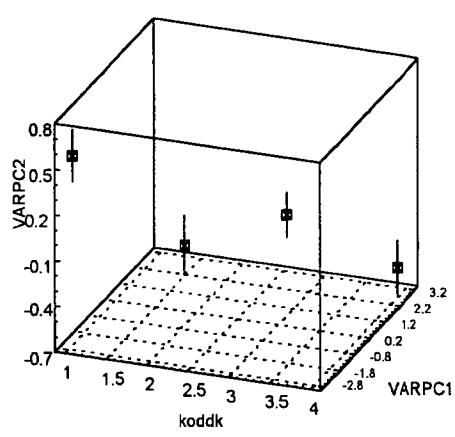
($n=160$, $SE= 5,85$ $R^2=0,9764$)



2. ábra. A Trappista sajt korának becslése proteolitikus jellemzőkkel

2.2.6 A proteolitikus jellemzők és az érettségi állapot közötti összefüggés tanulmányozása

A sajtminták érettségi állapotát az érési és az eltarthatósági időben az érettségi állapot minősítésére kidolgozott pontrendszer [17] segítségével minősítettük. A különböző érettségi állapotú mintákat érzékszervi összpontszámuk, és a gyártástól eltelt idő figyelembevételével négy csoportba (nyers összpontszám<10, félérett, összpont: 10-17, érett: összpont>17, túlérett összpont>17) soroltuk. Az első két főkomponens varianciaanalízisét elvégeztük a minták érettségi állapota alapján. A különböző érettségi állapotú minták első két főkomponense Trappista sajtnál szignifikánsan eltért. (3. ábra).



3. ábra. A proteolitikus jellemzőkből képzett első két főkomponens érettségi állapot szerinti variancia analízise

Trappista sajt egyes proteolitikus jellemzőinek (3. frakció százalékos területaránya, az 1 és 4. frakció százalékos területarányának hányadosa és fotometriás adatok) bevonásával diszkriminancia analízist végeztünk, hogy megállapítsuk eredeti változók segítségével a minták között érettségi állapot szerint van-e szignifikáns különbség. A vizsgálati minták feltételezett csoportjai és a minták diszkrimináló egyenletek segítségével becsült csoportjai közötti kapcsolat a II. táblázatban található.

II. táblázat. A különböző érettségű Trappista minták feltételezett és a diszkrimináló egyenlettel osztályozott csoportjai

Becsült csoportosítás	Eredeti csoportok (szám, százalék)							
	1		2		3		4	
1	37	(92,50)	3,00	(7,50)	0,00	0,00	0,00	0,00
2	1	(3,40)	27,00	(84,38)	4,00	(12,50)	0,00	0,00
3	0	0,00	17,00	(28,33)	39,00	(65,00)	4,00	(6,67)
4	0	0,00	0,00	0,00	4,00	(14,29)	24,00	(85,71)

A nyers- félérett és a túlérett minták esetén a diszkrimináló egyenletekkel kapott csoportok több mint 84%-ban megegyeztek az eredeti osztályozással. Az érett

**BARÁNÉ et al.: A Trappista sajt minősítésére, érettségi állapotának jellemzése
alkalmas másodlagos proteolitikus jellemzők megállapítása többváltozós
módszerekkel**

minták esetén ez az arány rosszabb, csak 65%. Az érett minták egy része proteolitikus jellemzőik alapján a félérett ill. a túlérett kategóriába esett.

A diszkriminancia analízissel megállapítható, hogy a proteolitikus jellemzők alapján az érzékszervileg kiváló minőségű sajt nem határolódott el félérett és a túlérett csoporttól.

Megállapításaink a következők:

- A vízzoldható frakció kromatogramjai a Trappista sajtra karakterisztikusak voltak.
- A proteolitikus jellemzők korrelációjuk alapján két főkomponens változóvá összevonhatók, a főkomponens súlyok értékeit figyelembe véve megállapítottuk, hogy a jelentős főkomponenseket túlnyomóan mely eredeti változók határozták meg.
- Az első főkomponens értékéből a Trappista sajt kora lineáris összefüggés szerint becsülhető volt.
- Léteztek olyan az érettségi állapot minősítésére felhasználható proteolitikus jellemzők, melyek segítségével a gyártástól eltelt idő többváltozós lineáris regresszióval szintén becsülhető volt.
- Az érettségi állapot jellemzésére kidolgozott pontozásos érzékszervi módszerrel csoportokat (nyers, félérett, érett, túlérett) képezve, az első két főkomponens érettségi csoportok szerinti variancia analízise alapján megállapítható, hogy Trappista sajtnál a különböző érettségi állapotú minták átlagértékei szignifikánsan eltértek egymástól.
- Az eredeti változók diszkriminancia analízisével a minták között érettségi állapotban találtunk szignifikáns különbséget.

**BARÁNYÉ et al.: A Trappista sajt minősítésére, érettségi állapotának jellemzése
alkalmas másodlagos proteolitikus jellemzők megállapítása többváltozós
módszerekkel**

Irodalom

1. Palló-Kisérdi, I. Kárpáti, Z. & Farnadi, É. (2001): Élelmezési Ipar 60, 238-242.
 2. <http://www.amc.hu/html/egyedi/egszoatej/12.html>
 3. Bara-Herczegh, O. Horváth-Almássy, K. Fenyvessy, J. & Örsi, F. (2001): Acta Alimentaria 30, 127-143.
 4. Farkye, N. Y. & Fox, P. F. (1990): Trends in Food Science and Technology 1, 37-40.
 5. McSweeney, P. L. H. & Fox, P. F. (1993): Cheese: Methods of Chemical Analysis in Fox P F (ed) Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Volume 1 2th edn. Chapman and Hall London pp 341-387.
 6. Sousa, M. J. Ardö, Y. & McSweeney, P. L. H. (2001): International Dairy Journal 11, 327-345.
 7. McSweeney, P. L. H. & Fox, P. F. (1997): Lait 77, 41-76.
 8. Wallace, J. M. & Fox, P. F. (1998): Food Chemistry 62, 217-224.
 9. Singh, T. K. Gripon, J. C. & Fox, P. F. (1999): Bulletin of the International Dairy Federation No 337 pp 17-23.
 10. Rank, T. C. Grappin, R. & Olson, F. (1985): J. Dairy Sci. 68, 801-805.
 11. Polychroniadou, A. (1988): J. Dairy Res. 55, 585-596.
 12. Polychroniadou, A. (1994): Milchwissenschaft 49, 376-379.
 13. Sorensen, J. & Benfeldt, C. (2001): International Dairy Journal 11, 355-362.
 14. Pripp, A. H. Rehman, S. U. McSweeney, P. L. H. & Fox, P. F. (1999): International Dairy Journal 9, 473-479.
 15. Frau, M. Simal, S. Femenia, A. & Rosselló, C. (1997): Z. Lebensm. Unters. Forsch. 205, 429-432.
 16. Ruiz, A. G. Cabezas, L. Martin-Alvarez, P. J. & Cabezudo, D. (1998): Z. Lebensm. Unters. Forsch. 206, 382-386.
 17. Bara-Herczegh, O. Horváth-Almássy, K. & Örsi, F. (2000): Egyptian Journal of Dairy Science 28, 239-258.
 18. MSZ 2714/2:1989 Sajt ömlesztett sajt és túró kémiai és fizikai vizsgálata. A víz és szárazanyag-tartalom meghatározása
 19. MSZ 2714/1:1989 Sajt ömlesztett sajt és túró kémiai és fizikai vizsgálata. A zsírtartalom meghatározása
 20. MSZ 2714/3: 1989 Sajt ömlesztett sajt és túró kémiai és fizikai vizsgálata. A nátrium-klorid tartalom meghatározása
 21. Official methods of analysis, 15th edn. Horwitz, Washington, DC
 22. Kaminogawa, S. Yan, T. R. Azuma, N. & Yamauchi, K. (1986): J Food Sci. 51, 1253-1256, 1264.
 23. Pungor, E. (1994): A practical guide to instrumental analysis, CRC Press Boca Raton, Fla.
 24. Sváb, J. (1979): Többváltozós módszerek a biometriában, Mezőgazdasági kiadó, Budapest.
 25. Sváb, J. (1981): Biometriai módszerek a kutatásban, Mezőgazdasági kiadó, Budapest.
-

26. Bujtás, P. & Leisztner, L. (1991): Analitikai mérési eredmények minőségbiztosítása GLP kiadó Budapest
27. Fox, P. F. (1993): Cheese: An Overview, in Fox P F (ed) Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Volume 1 2th edn. Chapman and Hall London pp 1-35.
28. Jackman, R. L. & Yada, R. Y. (1989): Can. Inst. Food. Sci. Technol. J 22, 260-269.

APPLICATION OF MULTIVARIATE METHODS TO IDENTIFY THE INDICES OF SECONDARY PROTEOLYSIS FOR TRAPPIST CHEESE MATURITY AND QUALITY

H.O. BARA¹, A. K. HORVÁTH¹ and F. ÖRSI²

SZTE University College of Food Engineering
6724 Szeged, Mars tér 7.
Phone/Fax.: +36-62/546-024
E-mail: otti@szef.u-szeged.hu

ABSTRACT

Application of secondary proteolytic data (Size-Exclusion Chromatography and Spectrophotometric values) was investigated to characterize the ripening of Hungarian Trappist cheese. The proteolytic parameters were determined during the ripening period and self-life, to find correlation between the changes in proteolytic parameters and age or sensory properties of the product. The investigated Trappist cheese samples of 5 different manufacturing processes were qualified with chemical composition and sensory tests. The proteolytic values were evaluated with statistical methods (single-valued and multivariate analysis). Some proteolytic parameters can be useful ripening index to characterise the maturity of the Hungarian Trappist cheese.